

第 88 回麻布獣医学会 一般演題 14

蛍光 RT-Multiplex PCR 法による食中毒等集団感染事例からの下痢症ウイルスの検出

東久保 靖¹, 重本 直樹¹, 田中 智之², 野田 衛³, 福田 伸治⁴

¹ 広島県立総合技術研究所保健環境センター, ² 堺市衛生研究所,

³ 国立医薬品食品衛生研究所, ⁴ 広島文教女子大学

1. はじめに

近年, ウイルス性胃腸炎については, 検出技術や研究が進み, ノロウイルス (NoV) のみならず様々な下痢症ウイルスの関与が明らかになってきている。一方で, 行政サイドからは, 食の安全・安心の高まりから健康被害の拡大防止のために原因微生物を迅速に決定して対応する必要性が強く求められている。

そこで, 当センターでは, 複数の下痢症ウイルスを同時かつ迅速に検査するため, PCR 産物の大きさが近似していても容易に鑑別できる蛍光標識プライマーを用いた RT-Multiplex PCR 法 (蛍光 RT-M-PCR) の開発を行い, 本法による食中毒等事例の有症者便から下痢症ウイルスの検出を試みたので報告する。

2. 材料及び方法

検体には, 2010 年 10 月～2013 年 4 月に発生した食中毒等集団感染事例 43 事例における有症者便 123 検体を用いた。10 種類の下痢症ウイルスを 3 つのプライマーセット (A セット: NoV G I, NoV G II, サボウイルス (SaV), アストロウイルス (HAstV), B セット: アイチウイルス (AiV), ボカウイルス (HBoV), パレコウイルス (HPeV), C セット: A 群ロタウイルス (RVA), C 群ロタウイルス (RVC), アデノウイルス (AdV)) に分けて, ウイルス毎に異なる色の Alexa

蛍光で標識した蛍光 RT-M-PCR により対象ウイルスの検出を試みた。

3. 成績

既知検体を用いて蛍光 RT-M-PCR を実施したところ, 各ウイルスの増幅産物を蛍光色及び増幅サイズで識別することが可能であった。

食中毒等集団感染事例 43 事例中, NoV G II によるものが 36 事例 (83.7%), NoV G I, SaV 及び RVA によるものが各 1 事例 (2.3%), 不検出が 3 事例 (7.0%) であった。

また, 7 名の有症者からは原因ウイルス以外に複数のウイルスが検出された。

4. 考察

蛍光 RT-M-PCR は, 各ウイルスの増幅産物を蛍光色及び増幅サイズで識別することが可能であり, 視覚的に判定が容易であった。10 種類の下痢症ウイルスの検査が包括的に実施できることから, 食中毒等集団感染事例のスクリーニング法として有用であると考えられた。

また, 7 名の有症者では, 原因ウイルス以外の下痢症ウイルスも検出されていることから, 重複感染の可能性も考慮して検査を行う必要があると思われた。